



UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

# **“DETERMINACIÓN DE NIVELES SÉRICOS DE 25 HIDROXIVITAMINA D EN UNA COHORTE DE GESTANTES CON Y SIN PREECLAMPSIA DE LA CIUDAD DE BOGOTÁ COLOMBIA”**

**Yessica Agudelo Zapata**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina  
Departamento de Medicina Interna

Bogotá, Colombia  
2018

# **“DETERMINACIÓN DE NIVELES SÉRICOS DE 25 HIDROXIVITAMINA D EN UNA COHORTE DE GESTANTES CON Y SIN PREECLAMPSIA DE LA CIUDAD DE BOGOTÁ COLOMBIA”**

**Yessica Agudelo Zapata**

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:

**Especialista en endocrinología**

Director:

Dr. Luis Miguel Maldonado Acosta

Codirector:

PhD. Jorge Eduardo Caminos Pinzón

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina Interna

Bogotá, Colombia

2018

*“En todas las actividades es saludable, de vez en cuando,  
poner un signo de interrogación sobre aquellas cosas que  
por mucho tiempo se han dado como seguras”.*

*Bertrand Russell*

## Agradecimientos

Este trabajo de investigación no sería posible sin el esfuerzo del equipo multidisciplinario que estuvo a mi lado durante los 4 años de formación. Un agradecimiento especial al Dr. Jorge Eduardo Caminos quien creyó en mí cuando planteé esta propuesta de investigación, a todo el equipo humano detrás del proyecto de COLCIENCIAS: ***valores de biomarcadores séricos en la predicción del desenlace materno y su evolución a seis meses, número del proyecto 110154531660***. Quiero agradecer a mi director de tesis y a todos mis profesores del programa de endocrinología; Dr. Luis Miguel Maldonado Acosta, Dr. Roberto Franco Vega, Dr. Juan Manuel Arteaga. Quiero agradecer también a mis compañeros y amigos Héctor Fabio Sandoval, Andrés Bedoya y Natalia Elvira Poveda, por todo el afecto y el apoyo. A mis estudiantes de la línea de investigación en vitamina D quienes me llenaron de motivación. A la Dra. Edith Angel Mullier y al Dr. Arturo Parada del departamento de ginecología y obstetricia. Finalmente, a mi madre, a mi hermana Yineth, a mis tías Edilma, Yolima y a mi novio Juan David, quienes me apoyaron y creyeron en mí.

## Resumen

El déficit de vitamina D es prevalente en el mundo y está relacionado con desenlaces materno perinatales adversos como la preeclampsia.

El objetivo de este estudio de casos y controles anidado en una cohorte longitudinal de gestantes Colombianas, es el de comparar los niveles séricos de 25-hidroxivitamina D (25OHVD) y otros biomarcadores en un grupo de gestantes sanas durante los tres trimestres del embarazo, 3 y 6 meses postparto (n=61) contra un grupo de gestantes que desarrollaron preeclampsia (n=20). Además, se incluyó un grupo de mujeres no gestantes sanas durante la fase folicular y lútea del ciclo menstrual (n=29).

Resultados: La media de los niveles séricos de 25OHVD en mujeres embarazadas sanas fue de 26,5 ng / mL, 30,1 ng / mL y 31,9 ng / mL, en el primer, segundo y tercer trimestre, respectivamente ( $p < 0.001$ ).

La media de los niveles de 25OHVD en mujeres no embarazadas durante la fase folicular del ciclo menstrual fue de 31.9 ng / mL, mientras que, en la fase lútea fue de 34.9 ng / mL ( $p < 0.01$ ).

Los niveles de 25OHVD durante el primer trimestre de la mujer embarazada sana fueron más bajos comparados con los de las mujeres no embarazadas independiente de la fase del ciclo menstrual ( $p < 0,001$ ) y mostraron una recuperación significativa hacia el tercer trimestre del embarazo sano.

A los 3 y 6 meses postparto la media de niveles de 25OHVD fue de 25.7 ng / mL y 27.2 ng / mL respectivamente, y resultaron ser más bajos comparados con la mujer no gestante independiente de la fase del ciclo menstrual ( $p < 0.001$ ).

En las mujeres que desarrollaron preeclampsia, la media de los niveles de 25OHVD en el primer, segundo y tercer trimestre, fueron similares a los de mujeres embarazadas sanas; sin embargo, a diferencia de las sanas, los niveles de 25OHVD permanecieron casi sin cambios a lo largo de la gestación.

Conclusión: Las mujeres con embarazo sano presentaron una disminución de los niveles de 25OHVD durante el primer trimestre del embarazo comparado con la no gestante independiente de la fase del ciclo menstrual y tendieron a recuperarlos hacia en tercer trimestre, para luego volver a disminuir en el postparto. Los niveles séricos de 25OHVD en la mujer no gestante fueron más bajos en fase folicular que lútea del ciclo menstrual. No hubo diferencias significativas a lo largo del embarazo entre las mujeres sanas y aquellas con preeclampsia. Finalmente, no se encontró correlación entre los niveles de 25OHVD y los niveles de leptina.

**Palabras clave:** 25-Hidroxivitamina D, embarazo, preeclampsia, ciclo menstrual

## Abstract

**Background:** There is a high prevalence of low serum levels of 25-hydroxyvitamin D (25OHVD) during pregnancy and its deficiency has been associated with adverse outcomes.

**Objective:** This is a nested case-control study in a longitudinal cohort to compare the serum 25OHVD levels and others biomarkers in a group of 61 healthy pregnant women with 20 preeclamptic women. An additional group of 29 non pregnant women were studied during menstrual cycle.

**Results:** The mean serum 25OHVD levels in healthy pregnant women were 26.5 ng/mL, 30.1 ng/mL and 31.9 ng/mL, at first, second and third trimester respectively. The first trimester levels of 25OHVD were lower than those of healthy non pregnant women ( $p<0.001$ ) showing a significant recovery at third trimester. Mean 25OHVD levels in non-pregnant women during follicular phase were 31.9 ng/mL and 34.9 ng/mL during luteal phase ( $p<0.01$ ).

Three months after delivery mean levels of 25OHVD was 25.7 ng/mL and 6 months postpartum was 27.2 ng/mL, Those lower than the non pregnant women levels ( $p<0.001$ ).

25OHVD levels in preeclamptic women were similar to those of healthy pregnant women; nevertheless they remained almost unchanged along pregnancy.

**Conclusion:** Pregnant women had a high frequency of low serum levels of 25OHVD compared to non-pregnant women. There were no significant differences between healthy and preeclamptic pregnant women in terms of 25 OHVD levels along the pregnancy. 25OHVD serum levels in non pregnant women were higher during luteal phase compared with follicular phase. The 25OHVD levels of non pregnant women tended to be higher than those of pregnant women. The difference was significant during the first trimester finally, no correlation between 25OHVD levels and leptin levels was found.

**Keywords:** 25 hydroxyvitamin D, pregnancy, preeclampsia, menstrual cycle

# Contenido

<b>Resumen.....</b>	<b>5</b>
<b>Lista de figuras.....</b>	<b>8</b>
<b>Lista de tablas.....</b>	<b>9</b>
<b>Lista de símbolos y de abreviaturas.....</b>	<b>10</b>
<b>Introducción.....</b>	<b>11</b>
 <b>1. Marco teórico.....</b>	 <b>13</b>
1.1 Generalidades de la Vitamina D.....	13
1.2 Embarazo y vitamina D.....	15
1.3 Preeclampsia y vitamina D.....	17
 <b>2. Objetivos.....</b>	 <b>20</b>
2.1 Objetivo General.....	20
2.2 Objetivo Específico.....	20
 <b>3. Métodos.....</b>	 <b>21</b>
3.1 Pacientes y diseño del estudio.....	21
3.2 Pruebas de laboratorios.....	22
3.3 Determinación de niveles séricos de 25OHVD.....	22
3.4 Análisis estadístico.....	22
 <b>4. Resultados.....</b>	 <b>24</b>
4.1 Resultados Mujeres no gestantes.....	24
4.2 Resultados Gestantes sanas.....	25
4.3 Resultados Gestantes que desarrollaron preeclampsia.....	30
4.4 Comparación entre embarazo sano y preeclampsia.....	31
4.5 Correlación con leptina. ....	33
4.6 Resultados frecuencias de niveles inadecuados de 25OHVD.....	34
 <b>5. Discusión.....</b>	 <b>35</b>
 <b>6. Conclusiones y recomendaciones.....</b>	 <b>38</b>
 <b>7. Bibliografía.....</b>	 <b>39</b>

## Lista de figuras

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Metabolismo de la vitamina D.....	13
Figura 2. Metabolismo de la vitamina D en la interface materno placentaria.....	15
Figura 3. Comparación entre los niveles de 25OHVD de la fase folicular con lútea del ciclo menstrual.....	25
Figura 4. Comparación entre los niveles de 25OHVD durante los diferentes periodos de la gestación sana.....	28
Figura 5. Comparación entre los niveles de 25 OHVD durante el ciclo menstrual de la mujer no gestante y la gestación sana y posparto.....	29
Figura 6. Comparación entre los niveles de 25 OHVD durante el embarazo sano y el embarazo complicado por preeclampsia.....	32
Figura 7. Porcentaje de frecuencias de niveles mayores de 30ng/mL, entre 20 y 30 ng/mL y niveles menores de 20 ng/mL.....	34



## Lista de tablas

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Características clínicas de las mujeres no gestantes.....	25
Tabla 2. Características clínicas de las gestantes sanas.....	27
Tabla 3. Niveles séricos de 25OHVD durante la gestación sana y el postparto.....	28
Tabla 4. Comparación de niveles séricos de 25OHVD durante la gestación sana y el postparto con la mujer no gestante en ambas fases del ciclo menstrual.....	30
Tabla 5. Características clínicas de las gestantes que desarrollaron preeclampsia....	31
Tabla 6. Niveles de 25OHVD durante el embarazo complicado por preeclampsia ...	32
Tabla 7. Niveles de 25OHVD durante el embarazo complicado por preeclampsia y su comparación con el embarazo sano.....	33

## Lista de Símbolos y abreviaturas

25OHVD	25 hidroxivitamina D
1,2(OH) <sub>2</sub> VD	Calcitriol
ACOG	Colegio Americano de obstetras y ginecólogos
CYP	Citocromo
DE	Desviación estándar
FGF23	Factor de crecimiento fibroblástico 23
IOM	Institute of Medicine
RIC	Rango inter-cuartil
IMC	Índice de masa corporal
NK	Natural Killer
OMS	Organización Mundial de la Salud
PTH	Hormona Paratiroidea
PAS	Presión arterial Sistólica
PAD	Presión Arterial Diastólica
RXR	Receptor Retinoide X
VDR	Receptor de Vitamina D
TNF $\alpha$	Factor de Necrosis tumoral alfa

## Introducción

Se ha descrito una alta prevalencia de déficit de vitamina D durante la gestación (1,2). La prevalencia de niveles séricos  $<20$  ng / mL de 25OHVD en mujeres embarazadas en los Estados Unidos se ha informado en un 30%, mientras que en países como Turquía la prevalencia es del 90% (3,4).

La **Endocrine society** recomienda la tamización universal de los niveles de 25OHVD durante la gestación (5). En cambio, la Organización Mundial de la Salud (OMS) no lo recomienda (6). Adicionalmente, el consenso de expertos en Colombia para el manejo del déficit de vitamina D, no recomienda la tamización de rutina pregestacional (7).

En Colombia no hay estudios realizados en mujeres gestantes, pero si hay reporte de datos en otros grupos poblacionales. En población general de 20 a 60 años, se reportó frecuencia de niveles insuficientes del 74.9% (8). En mujeres posmenopáusicas, encontraron prevalencia de niveles insuficientes en cerca del 60.36% (9–12). En niños colombianos del 64.67%. Y finalmente, en pacientes post trasplantados renales del 46,1% (13).

Previamente se ha destacado la importancia de alentar investigaciones de índole nacional para conocer el perfil sérico de vitamina D en maternas Colombianas (14). El objetivo de este trabajo de grado es comparar los niveles séricos de 25OHVD durante el embarazo sano y complicado por preeclampsia y la mujer no gestante en una cohorte de Colombianas de la ciudad de Bogotá.

Las contribuciones de este trabajo de grado son:

- 1. Por primera vez se determina niveles de 25OHVD en gestantes sanas y con preeclampsia en Colombia.**
- 2. Inclusión de mujeres no gestantes eumenorreicas en ambas fases del ciclo menstrual.**
- 3. Y por primera vez se intenta realizar correlación entre leptina, vitamina D y preeclampsia.**

Adicionalmente, se formaron 6 estudiantes de pregrado en investigación, se realizó una publicación en la Revista Colombiana de Endocrinología Diabetes y Metabolismo, se fortaleció la cátedra de Biología Molecular para los estudiantes de postgrado y el grupo de Investigación en Endocrinología y nutrición básica de la Universidad Nacional de Colombia.

Este trabajo de grado fue ganador de la convocatoria “Programa Nacional de semilleros de investigación, creación e innovación de la Universidad Nacional de Colombia 2013-2015” con el código de proyecto 32276. Además, se recibió apoyo económico del Departamento de Medicina Interna de la Universidad Nacional de Colombia y del Laboratorio de investigación Hormonal.

Este trabajo de grado está conformado por 7 capítulos

- Capítulo 1: Marco teórico
- Capítulo 2: Objetivos
- Capítulo 3: Metodología y el detalle del diseño del estudio
- Capítulo 4: Análisis y resultados de la investigación
- Capítulo 5: Discusión
- Capítulo 6: Conclusiones
- Capítulo 7: Bibliografía

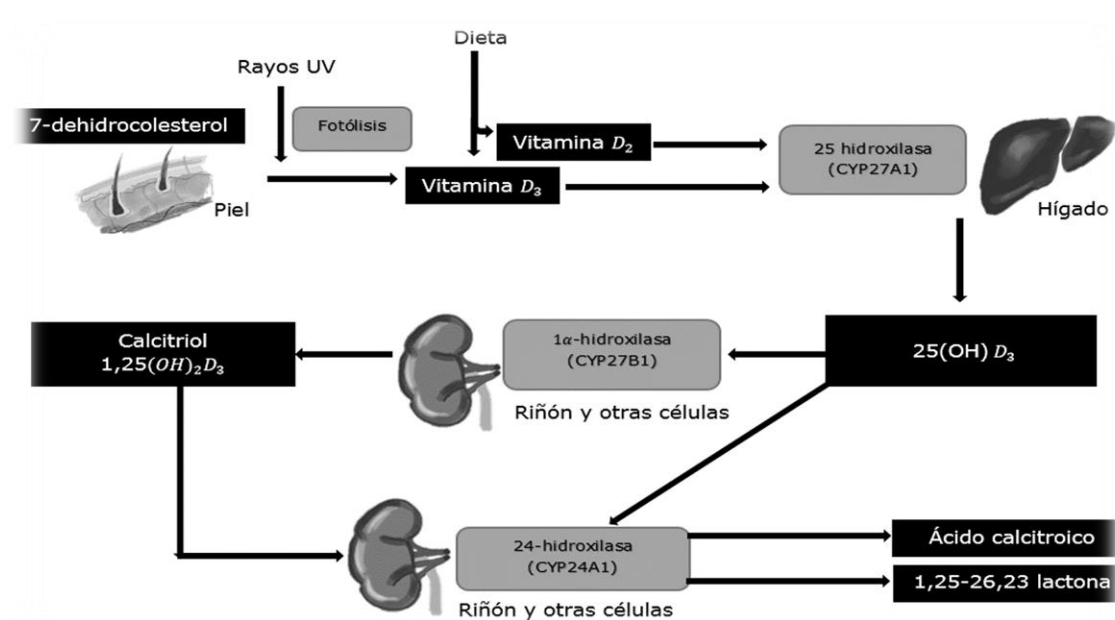
# 1. Marco Teórico

## 1.1 Generalidades de la vitamina D

La vitamina D se encuentra disponible como colecalfiferol ( $D_3$ ) o ergocalciferol ( $D_2$ ) (15).  $D_3$  principalmente se obtiene de la síntesis subcutánea gracias a la exposición solar, dieta y suplementos (16). Mientras que  $D_2$ , se obtiene solo a partir de la dieta y suplementos (15,17). Ambas formas,  $D_2$  y  $D_3$  circulan unidas a la proteína ligadora de vitamina D (16).

Las enzimas implicadas en el metabolismo normal de la vitamina D son: la 25-hidroxilasa (CYP27A19),  $1\alpha$ -hidroxilasa (CYP27B1) y la 24-hidroxilasa (CYP24A1). Las principales reacciones se ilustran en la figura 1 (18).

**Figura 1. Metabolismo de la vitamina D**



Tomado de Agudelo Y. *et al.* (14). Representación esquemática del metabolismo de la vitamina D. Procesos mediante los cuales se obtienen la  $1,25(OH)_2VD$ .

La  $25OHVD$  es un metabolito que refleja las reservas fisiológicas de la vitamina y se sintetiza principalmente en el hígado. Este metabolito es el principal marcador

para establecer si hay o no déficit nutricional. La 25OHVD circula en el torrente sanguíneo unida a la proteína ligadora de vitamina D hasta el riñón donde continuará su metabolismo (16).

La 25OHVD se hidroxilará en el carbono alfa, gracias a la 1  $\alpha$ -hidroxilasa (CYP27B1) y se convertirá en 1,25-dihidroxitamina D (1,25 (OH)<sub>2</sub> VD), este proceso se da principalmente en el riñón (19).

Hay otros tejidos que también expresan la enzima CYP27B1, por ejemplo; Las células epiteliales en la piel, pulmones, mama, intestino, próstata, glándula paratiroidea, islotes pancreáticos, tiroides, testículos, ovario y placenta; células del sistema inmune incluyendo macrófagos, células dendríticas (DC), linfocitos T y B; osteoblastos y condrocitos (19).

La 1 $\alpha$ -hidroxilasa renal está estrechamente regulada por la hormona paratiroidea (PTH), el factor de crecimiento de fibroblastos 23 (FGF23), el ion calcio, el fósforo y los niveles de 1,25 (OH)<sub>2</sub> VD.(19).

La 24-hidroxilación, es una reacción para evitar la acumulación de niveles tóxicos de 1,25 (OH)<sub>2</sub>VD (20). Su principal función es formar ácido calcitrioico que es biológicamente inactivo (20). Esta enzima está regulada positivamente por la 1,25 (OH)<sub>2</sub> VD, la PTH, el FGF23 **y recientemente se ha descrito su regulación negativa por la progesterona** (21).

Hay otras enzimas implicadas en el metabolismo de la vitamina D como lo son la 3-epimerasa y la CYP11A1, pero su papel es menos entendido (20).

El objetivo de las diferentes reacciones y la regulación estrecha del metabolismo de la vitamina D es el de mantener las concentraciones adecuadas en sangre de la forma activa de la vitamina D 1,25(OH)<sub>2</sub> VD que actúa en toda la economía corporal a través de vías de señalización genómicas y no genómicas (14).

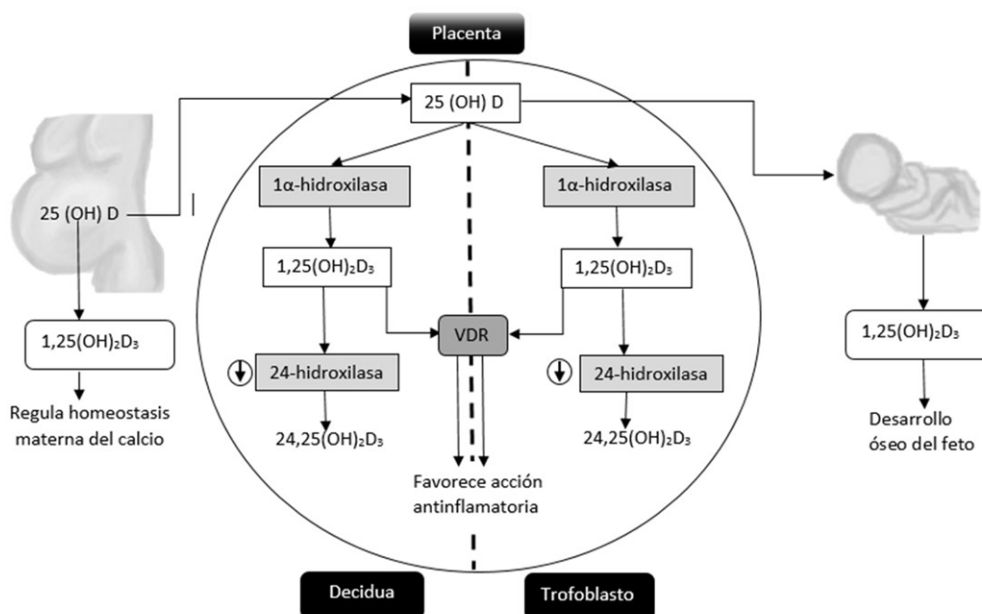
Las vías genómicas, están asociadas al receptor de vitamina D (VDR) nuclear, por el contrario las no genómicas funcionan a través de receptores de membrana y VDR asociados a caveolas de la membrana plasmática, que van a facilitar apertura de canales de calcio o cloro rápidos en células como los osteoblastos (22).

Son más de 2300 genes regulados por 1,25(OH)<sub>2</sub> VD ya sea por transrepresión o transactivación, que no solo tienen que ver con el metabolismo del fósforo-calcio, si no con genes relacionados a ciclo celular, metabolismo energético, sistemas de detoxificación, entre otras vías de señalización que se ha revisado previamente (14).

## 1.2 Embarazo y vitamina D

La placenta humana expresa el VDR, el RXR, la  $1\alpha$ -hidroxilasa y la 24-hidroxilasa (19,2). Sin embargo, aunque haya síntesis demostrada de la enzima 24-hidroxilasa en placenta, la actividad de esta enzima disminuye para aumentar los niveles de calcitriol que se sintetiza la decidua humana y el trofoblasto (23,24) figura 2.

**Figura 2. Metabolismo de la vitamina D en la interface materno placentaria**



Tomado de Agudelo Y. *et al.* (14). El metabolismo de la vitamina D y la función durante el embarazo. Esquema que muestra el metabolismo de la vitamina y las respuestas funcionales clave en la madre, la placenta y los sistemas fetales.

La producción de la  $1,25(\text{OH})_2\text{VD}$  en la placenta humana lleva al aumento de la absorción de calcio por el intestino materno, para satisfacer las necesidades de calcio del feto (25)

Se ha descrito que durante el primer y segundo trimestre, el feto fija la matriz de colágeno del hueso y, durante el último trimestre, comienza la calcificación del esqueleto (21). Esta demanda está satisfecha por una mayor producción de  $1,25(\text{OH})_2\text{VD}$  por el riñón de la madre y la placenta, aumentando gradualmente las concentraciones circulantes maternas durante el primer y segundo trimestre (2,5)

La determinación de los niveles de 25OHVD en Colombia en las maternas y en la población general, se realiza por medio de la medición en suero del metabolito 25OHVD por quimioluminiscencia, sin embargo, la técnica considerada el estándar de oro, es la espectrometría de masas en tándem por cromatografía líquida, que no está disponible de manera rutinaria en el país (26).

Hay diferencias en las definiciones internacionales de deficiencia, insuficiencia y suficiencia de la vitamina D (19). Las guías de manejo de la *Endocrine Society* (que han sido las más acogidas) recomiendan definir las categorías como: deficiencia a los valores de la 25OHVD por debajo de 20 ng/mL ( 50 nmol/L ), insuficiencia, como los valores de 21 a 29 ng/mL (52-72 nmol/L), y niveles suficientes por encima de 30 ng/mL ( > 72 nmol/L), dependiendo de la población (5). La IOM en su guía del 2011 propone 20 ng/mL (50 nmol/L) como punto de corte de deficiencia (27).

El consenso Colombiano de expertos publicado recientemente para el manejo del déficit de vitamina D adoptó los puntos de corte de *Endocrine society* (7).

Otros autores han propuesto que las maternas durante los 3 trimestres del embarazo deberían mantener concentraciones mayores de 40ng/mL (2)

La deficiencia y la insuficiencia de vitamina D son comunes en las mujeres en edad reproductiva y durante el embarazo (17). Tanto la deficiencia como la insuficiencia de vitamina D pueden presentarse en Colombia a pesar de estar en zona tórrida, debido a la coexistencia de factores de riesgo como: exposición solar inadecuada, ingesta insuficiente de vitamina D, foto tipo de la piel, poca actividad al aire libre, obesidad, uso de algunos medicamentos y lactancia materna sin suplementación (16).

Diversos estudios han reportado que durante el embarazo hay alta frecuencia tanto de insuficiencia como de deficiencia de vitamina D. Se ha informado prevalencias tan altas como la de Turquía de alrededor del 90% (3,4). En otros países como Estados Unidos han descrito una prevalencia del 29% de mujeres afrodescendientes y el 5% de mujeres de raza caucásica (28). Igualmente, encontraron niveles en rango de insuficiencia en el 54% de mujeres afrodescendientes y 47% en mujeres de raza blanca (28). Resultados similares se han publicado en estudios realizados en otros grupos de población (29,30).

Esta alta prevalencia ha justificado que en las guías de manejo de *Endocrine Society* y la *IOM*, se sugiera que las mujeres embarazadas y en periodo de lactancia requieran por lo menos 600 UI/día de vitamina D (5). Incluso, se sabe que para mantener un nivel en sangre por encima de 30 ng/mL se requiere al menos 1500 UI/día (5).



Por su parte, la guía de suplementación de vitamina D de la OMS del 2012 no recomienda la suplementación rutinaria de la vitamina D, pero se advierte que si se documentan niveles por debajo de 20ng/mL debe llevarse a cabo la suplementación (6).

Recientemente, Cochrane realiza una revisión sistemática de la literatura para el año 2016 que incluye 15 ensayos clínicos que evaluaron a 2.833 mujeres, donde se encuentran que las mujeres que recibieron suplementos de vitamina D pueden tener un menor riesgo de preeclampsia que aquellas mujeres que no recibieron intervención o recibieron placebo (RR) 0,52; IC del 95% (0,25-1,05), sin embargo el intervalo de confianza es amplio y es una evidencia de baja calidad (3). De esta manera, en dicha revisión sistemática se concluye que la evidencia existente no respalda la suplementación de rutina de vitamina D durante el control prenatal (3).

### ***1.3 Preeclampsia y vitamina D***

La preeclampsia es una de las principales causas de mortalidad materna en el país (31). Que resulta de una compleja interacción entre: la actividad del eje renina-angiotensina-aldosterona, exceso de mineralocorticoides, factores genéticos, inmunológicos, disfunción endotelial, anomalías neurovasculares, el incremento de la actividad simpática, entre otros mecanismos (32).

Clínicamente, la preeclampsia se puede definir, según el ACOG, como la presencia en el embarazo o el puerperio de presión arterial alta, es decir,  $\geq 140/90$  mmHg tomada en dos ocasiones y por lo menos con 4 horas de diferencia, después de la semana 20 de gestación, en una mujer con una presión arterial previamente normal asociada a proteinuria significativa (30 mg en muestra de orina aislada y/o 300 mg en orina recogida durante 24 horas o relación proteinuria/creatininuria  $\geq 0,3$ ) (33).

Además, se considera preeclampsia severa cuando la presión arterial es  $\geq 160/110$  mmHg en dos ocasiones por lo menos con 4 horas de diferencia, o con cualquiera de las siguientes características analíticas: trombocitopenia, insuficiencia renal, síntomas cerebrales o visuales, insuficiencia hepática o edema pulmonar (33).

Existen publicados varios estudios de casos y controles y de cohortes prospectivas, que han demostrado que las mujeres que desarrollaran

preeclampsia tienen niveles séricos menores de 25OHVD en comparación con los controles (34).

Hypponen *et al.* Publicaron una revisión sistemática y meta-análisis en el 2013, donde concluyen que los bajos niveles de 25OHVD, incrementan el riesgo de preeclampsia y, por el contrario, la suplementación de esta vitamina reduce este riesgo (34).

Se han propuesto varios mecanismos por los cuales el déficit de vitamina D es un factor de riesgo para preeclampsia (34), ellos son: la inhibición del sistema renina-angiotensina-aldosterona, perfil de modulación inmunológica y el favorecimiento del metabolismo del calcio (32-34). La vitamina D actúa como un potente supresor del sistema renina-angiotensina-aldosterona por medio de la interacción de VDR con el ligando calcitriol que reprime la transcripción del gen que codifica para la renina en el riñón, lo que explica que los niveles adecuados sean protectores (35). En segundo lugar, la vitamina D tiene un efecto supresor en la proliferación de células de músculo liso vascular y mejora la vasodilatación dependiente de células endoteliales (35).

Además, existe una gran diferencia en cuanto a la expresión de citocinas por parte de las células inmunes de acuerdo a los niveles de vitamina D (33). Por ejemplo, en presencia de niveles adecuados, las células trofoblásticas, los macrófagos y los linfocitos NK reducen la expresión de moléculas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), la interleuquina 6 o la interleuquina 1. Por su parte, las células dendríticas, en presencia de vitamina D en concentración suficiente, aumentan la expresión de moléculas protectoras o inmunosupresoras como la catelicidina o la interleuquina 10 (19).

Otros autores han propuesto que la vitamina D puede impactar en preeclampsia por el aumento secundario de calcio. La evidencia muestra que los suplementos de calcio pueden reducir la probabilidad de morbilidad o muerte materna; reducir aproximadamente a la mitad el riesgo de preeclampsia; y prevenir el parto prematuro (36,37). Un estudio de costo efectividad en Colombia muestra que la suplencia de carbonato de calcio a partir de la semana 14 de gestación es una alternativa dominante frente a la no intervención, que permite ganar 200 años de vida, al tiempo que disminuye costos del orden de \$ 5 933 millones de pesos por 100 000 gestantes (37).

Otro factor hormonal que ha sido claramente asociado con preeclampsia ha sido la leptina, hay estudios que demuestran una correlación positiva entre los niveles de leptina y la gestación complicada por preeclampsia (38).

Además, un meta-análisis reciente de estudios observacionales describe que hay una correlación entre niveles elevados de leptina y bajos niveles de vitamina D en la población general, lo que lleva a especular que quizás haya una relación entre hormonas involucradas en el metabolismo energético como leptina y la vitamina D durante el embarazo y los desenlaces adversos materno perinatales (39).

Finalmente, la progesterona se ha convertido una hormona de interés para el estudio de preeclampsia y vitamina D. Zabul *et al*, han propuesto un mecanismo molecular por el cual la suplementación con altas dosis de vitamina D puede disminuir el riesgo de preeclampsia, ellos proponen que la vitamina D3 podría actuar como un inhibidor competitivo del citocromo placentario de la P450scc previniendo la producción de peróxidos lipídicos o síntesis de progesterona en exceso, que son dos noxas que pueden contribuir a la etiopatogenia de la preeclampsia (40).

## **2. Objetivos**

### **2.1 General**

Conocer el comportamiento de los niveles séricos de 25OHVD durante los tres trimestres, 3 y 6 meses postparto del embarazo sano y compararlo con el comportamiento de los niveles durante los tres trimestres del embarazo complicado por preeclampsia y con la mujer no gestante sana.

### **2.2 Específicos**

- Comparar valores de 25OHVD séricos en un grupo de mujeres no gestantes durante las fases folicular y lútea del ciclo menstrual.
- Comparar valores de 25OHVD séricos en mujeres gestantes sanas en cada trimestre de la gestación y a los tres y seis meses postparto.
- Comparar valores de 25OHVD séricos en mujeres gestantes con preeclampsia en cada trimestre de la gestación y con las gestantes sanas.
- Correlacionar los valores de 25 hidroxivitamina D séricos con niveles de leptina séricos en los diferentes grupos.
- Determinar las frecuencias de niveles de 25OHVD menores de 20ng/mL, entre 20ng/mL-30ng/mL, mayores de 30ng/mL en los diferentes grupos.

## 3. Métodos

### 3.1 Pacientes y diseño del estudio

Este estudio fue aprobado por el comité de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia y se realizó de acuerdo con la declaración de Helsinki. El reclutamiento fue realizado por el Departamento de Obstetricia y Ginecología y Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia en el Hospital de Engativá de Bogotá entre los años 2012 y 2014. Todos los pacientes del estudio firmaron el consentimiento informado.

Este es un estudio de casos y controles anidado en una cohorte longitudinal que incluyó 81 gestantes de las 450 gestantes que fueron reclutadas en la cohorte original en el primer control prenatal realizado durante las semanas 11 a 13 de gestación, periodo que fue determinado por la ecografía temprana y el último ciclo menstrual. Durante el control prenatal, por política pública del país las gestantes reciben carbonato de calcio 600mg día, ácido fólico 1mg día y sulfato ferroso 200 mg que fueron los suplementos formulados durante todo el embarazo.

El grupo control consistió en 61 mujeres gestantes de la cohorte original, que fueran sanas y que no tuvieron ninguna complicación medica ni obstétrica durante la gestación o el parto y todas fueron seguidas durante los tres trimestres del embarazo, tres y seis meses postparto.

Adicionalmente, el grupo de casos incluyó 20 mujeres gestantes de la cohorte original que desarrollaron preeclampsia sin signos de severidad, que fue definida por los criterios del colegio americano de ginecología y obstetricia (33). El criterio establece el diagnóstico de preeclampsia sin características de severidad, con una presión arterial  $\geq 140/90$  mmHg examinada en dos ocasiones con un intervalo de al menos 4 horas después de una gestación de 20 semanas (en una mujer con presión arterial previamente normal) y proteinuria 300 mg por recolección de orina de 24 horas (33).

Los criterios de exclusión de las mujeres gestantes para este estudio fueron: la presencia de una comorbilidad médica importante como historia de diabetes mellitus, diabetes mellitus gestacional, historia pasada o presente de enfermedad de la tiroides, enfermedad vascular, hipertensión arterial crónica, enfermedad renal, síndrome de ovario poliquístico, uso de corticosteroides,  $\beta$ -bloqueadores,  $\beta$ -agonistas y otros fármacos que podrían afectar el metabolismo.

Además del grupo de gestantes, se estudió a un grupo de 29 mujeres sanas no embarazadas durante las fases folicular (días 3-5) y lútea (días 20-22) de su ciclo menstrual, eumenorreicas y con uso de métodos anticonceptivos no hormonales.

### **3.2 Pruebas de laboratorio**

Se recogieron muestras de sangre en tubos de suero de BD Vacutainer® de 5,0 mL de una vena del brazo superior, entre las 7:00 y 8:00 am después del ayuno nocturno. Las muestras de sangre se dejaron a temperatura ambiente durante 20 minutos y después la sangre coagulada se centrifugó a 3500 X g durante 10 minutos a 4°C. Las muestras de suero se transfirieron inmediatamente y se almacenaron en alícuotas a -80°C para evitar la congelación / descongelación hasta que se realizaron los análisis bioquímicos y hormonales.

Los niveles séricos de leptina se cuantificaron usando un kit de ELISA disponible comercialmente, de acuerdo con las recomendaciones del fabricante (Invitrogen®, número de catálogo USA KAC2281). Los coeficientes de variación intra-ensayo e inter-ensayo fueron <3,9 y <5,3%, respectivamente, la sensibilidad del ensayo fue menor de <3,5pg / mL y el kit ELISA de leptina no mostró reactividad cruzada con otras citocinas probadas. Además, las concentraciones séricas de leptina (pg / mL) se analizaron por duplicado para cada paciente.

### **3.3 Determinación de niveles séricos de 25OHVD**

Los niveles séricos de 25OHVD se cuantificaron por medio de inmunoensayo por quimioluminiscencia (CLIA) mediante kit disponible comercialmente, de acuerdo con los protocolos del fabricante (LIAISON® 25 OH Vitamin D TOTAL Assay REF 310600).

### **3.4 Análisis estadístico**

Las pruebas estadísticas se realizaron utilizando el software Python con los paquetes Scipy y Matplotlib. Los datos con distribución normal se informaron como media +/- desviación estándar (DE), mientras que los datos con distribución no normal se informaron como mediana y rango intercuartil (RIC). Se definió la normalidad de las variables por medio de la prueba Kolmogorov Smirnov. Dado variables que ajustaban a la normalidad y otras que no, se definió aplicar solo test

no paramétricos para todas las variables. Para las diferencias estadísticas entre grupos y medidas repetidas se utilizó la prueba de Friedman, se aplicó la prueba de Wilcoxon para variables emparejadas y el test de Mann-Whitney para variables independientes no emparejadas. También se estudió la correlación entre los niveles séricos de 25OHVD y los niveles de leptina séricos. Las correlaciones univariadas se evaluaron en los grupos por el coeficiente de correlación parcial de Spearman. Los valores estadísticos se presentan como \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  y \*\*\*  $p < 0,001$ . La significancia estadística se asumió con un  $p < 0,05$ .

## 4. Resultados

### 4.1 Resultados Mujeres no gestantes

Se caracterizaron 29 mujeres no embarazadas en edad fértil, la mediana de edad fue de 20.8 años (18 a 22) se tomaron muestras tanto en la fase folicular como en la lútea del ciclo menstrual, se corroboró con progesterona sérica que fue estadísticamente diferente entre las fases (0.5ng/mL (0.33-0.67) folicular vs 7.1ng/mL (4.65-11.05) lútea  $p < 0.001$ ). La mujeres no gestantes se encontraban en normo peso y normo tensas. (Tabla 1).

Los niveles séricos de leptina variaron durante el ciclo menstrual, y fueron más bajos en la fase folicular vs la fase lútea del ciclo menstrual (15694 pg/mL (14881-17541) vs 22301 pg/mL (20962-27313);  $p < 0.001$ ) (Tabla1).

Los niveles séricos de 25OHVD variaron durante el ciclo menstrual y fueron más bajos en fase folicular comparados con la fase lútea del ciclo menstrual (31.9ng/mL ( $\pm 6.03$ ) vs 34.9ng/mL ( $\pm 8.63$ );  $p < 0.01$ ) (Tabla1).

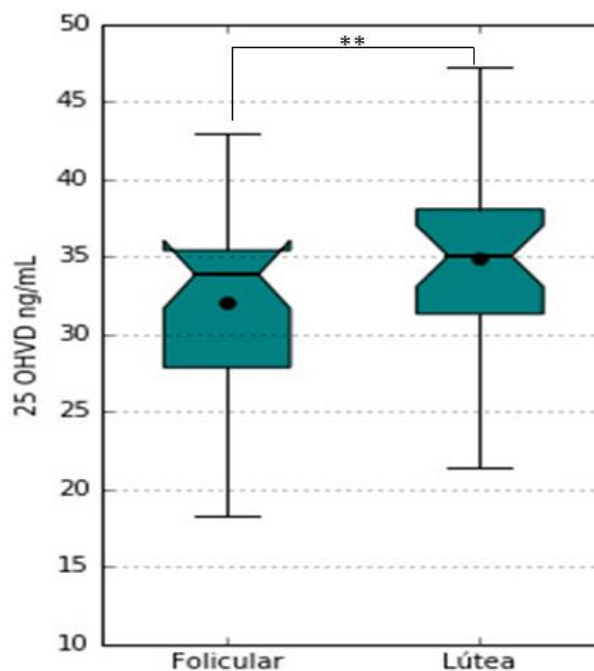
**Tabla 1. Características clínicas de las mujeres no gestantes**

Características	Mujeres no gestantes (n=29)		P valor
Edad (años) mediana (RIC)	20.8 (18-22)		NA
IMC (Kg/m <sup>2</sup> ) media $\pm$ DE	21.9 $\pm$ 2.02		NA
PAS (mmHg) media $\pm$ DE	107.8 $\pm$ 7.18		NA
PAD (mmHg) media $\pm$ DE	71.9 $\pm$ 6.88		NA
	Folicular	Lútea	
Progesterona (ng/mL) mediana (RIC)	0.5 (0.33-0.67)	7.1 (4.65-11.05)	<0.001***
Leptina (pg/mL) mediana (RIC)	15694 (14881-17541)	22301 (20962-27313)	<0.001***
25-OHVD (ng/mL) media $\pm$ DE	31.9 $\pm$ 6.03	34.9 $\pm$ 8.63	<0.01**

IMC: índice de Masa Corporal, PAS: Presión Arterial Sistólica, PAD: Presión Arterial Diastólica. Las variables no normales son enunciadas como mediana (RIC). Las variables con distribución normal son enunciadas como medias  $\pm$  DE. \* p-valor < 0.05, \*\* p-valor < 0.01, \*\*\*p-valor < 0.001.



**Figura 3. Comparación entre los niveles de 25OHVD de la fase folicular con la lútea del ciclo menstrual**



\* p-valor < 0.05, \*\* p-valor < 0.01, \*\*\*p-valor < 0.001. Los puntos muestran las medias.

## 4.2 Resultados Mujeres gestantes sanas

Se caracterizaron 61 mujeres gestantes durante los tres trimestres del embarazo 3 y 6 meses post parto. La mediana de edad fue de 23 años (19-30), normotensas durante el embarazo (Tabla 2).

**Tabla 2. Características clínicas de las gestantes sanas**

Característica		Gestantes sanas (n=61)
Edad (años) mediana (RIC)		23 (19-30)
Edad gestacional semanas, mediana (RIC)		
	Primer trimestre	12.1(11-13.6)
	Segundo trimestre	24.3 (24.2-24.6)
	Tercer trimestre	34.5 (34.2-35.4)
IMC media $\pm$ DE		
	Primer trimestre	22.6 $\pm$ 2.4
	Segundo trimestre	24.4 $\pm$ 2.47
	Tercer trimestre	26.3 $\pm$ 2.57
	3 meses PP	23.1 $\pm$ 4
	6 meses PP	23.1 $\pm$ 2.51
PAS (mmHg) media $\pm$ DE		
	Primer trimestre	95 $\pm$ 5
	Segundo trimestre	92.9 $\pm$ 9.7
	Tercer trimestre	97.8 $\pm$ 9.57
	3 meses PP	100.2 $\pm$ 9.82
	6 meses PP	102.7 $\pm$ 9.1
PAD (mmHg) mediana (RIC)		
	Primer trimestre	60 (60-64)
	Segundo trimestre	60 (58-60)
	Tercer trimestre	62 (60-70)
	3 meses PP	62 (60-66)
	6 meses PP	64 (60-68)
Leptina (pg/mL) mediana (RIC)		
	Primer trimestre	20468(17218-21544)
	Segundo trimestre	25400 (20201-27264)
	Tercer trimestre	35139 (28600-42384)

Las variables no normales son enunciadas como mediana (RIC). Las variables con distribución normal son enunciadas como medias  $\pm$  DE. \* p-valor < 0.05, \*\* p-valor < 0.01, \*\*\*p-valor < 0.001.

Los niveles séricos de 25OHVD a lo largo de la gestación sana se comportaron así: La media de 25OHVD en primer trimestre de gestación fue de 26.5 ng/mL ( $\pm$ 5.27), en segundo trimestre fue de 30.1ng/mL ( $\pm$  8.07) y en tercer trimestre fue de 31.9 ng/mL ( $\pm$ 8.59) (Tabla 3).

Cuando se comparan los niveles séricos de 25OHVD entre el primer y segundo trimestre del embarazo sano se evidencia un incremento estadísticamente significativo (26.5 ng/mL ( $\pm$  5.27) Vs 30.1ng/mL ( $\pm$  8.07);  $p < 0.01$ ), al igual que se aprecia un incremento estadísticamente significativo cuando se compararon los niveles entre el primer y el tercer trimestre (26.5 ng/mL ( $\pm$  5.27) Vs 31.9 ng/mL ( $\pm$  8.59);  $p < 0.001$ ) (Tabla 3 y Figura 3).

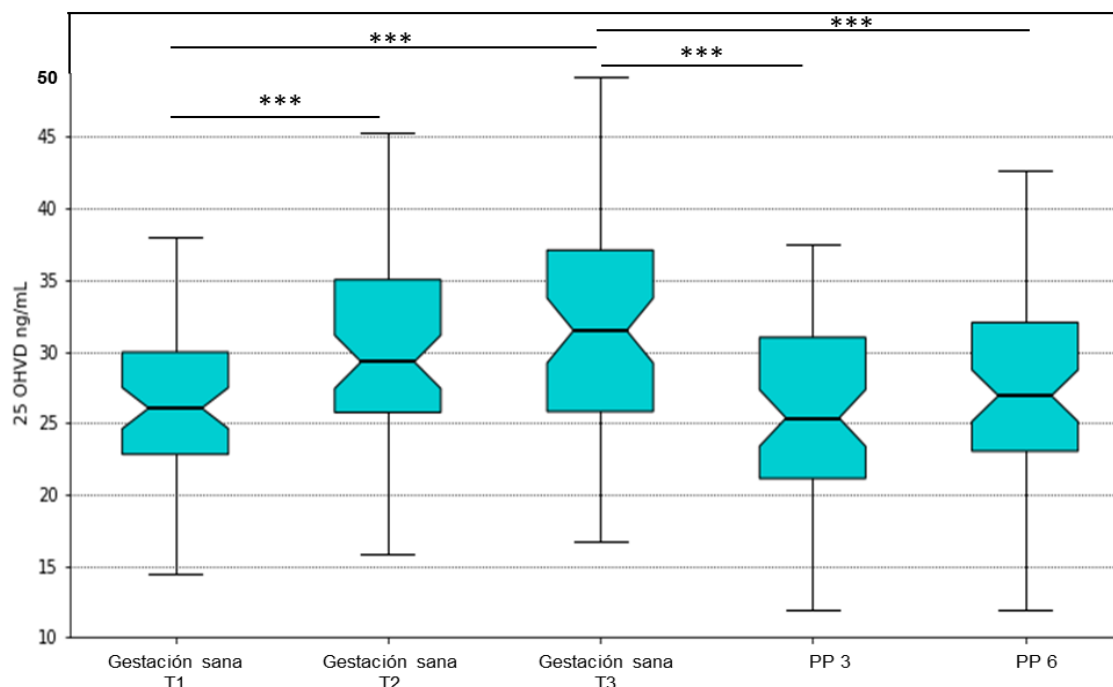
En el postparto, la media de niveles séricos de 25OHVD a los tres meses fue de 25.7ng/mL ( $\pm$  6.65), y a los seis meses fue de 27.2ng/mL ( $\pm$  6.78), Cuando se comparan los 3 meses postparto con el tercer trimestre los niveles disminuyen significativamente (25.7 ng/mL ( $\pm$ 6.65) Vs 31.91 ng/mL ( $\pm$ 8.59);  $p < 0.001$ ) (Tabla 3 y Figura 3)

**Tabla 3. Niveles séricos de 25OHVD durante la gestación sana y el postparto**

	Periodos embarazo sano (n=61)					*F	p- valor análisis post hoc				
	T1	T2	T3	PP 3	PP 6		T1 vsT2	T2 vsT3	T1 vsT3	T3 vs PP3	PP3 VS PP6
25OHVD ng/mL	26.5 $\pm$ 5.27	30.1 $\pm$ 8.07	31.9 $\pm$ 8.59	25.7 $\pm$ 6.65	27.2 $\pm$ 6.78	<0.001	<0.001	0.1045	<0.001	<0.001	0.1727

T: trimestre, PP: postparto, \*F: Friedman's test. Las variables no normales son enunciadas como mediana (RIC). Las variables con distribución normal son enunciadas como medias  $\pm$  DE. \* p-valor< 0.05, \*\* p-valor < 0.01, \*\*\*p-valor< 0.001.

**Figura 4. Comparación entre los niveles de 25OHVD durante los diferentes periodos de la gestación sana**



T: trimestre. PP: Postparto. \* p-valor < 0.05, \*\* p-valor < 0.01, \*\*\*p-valor < 0.001.

Se realizó además una comparación entre los niveles de 25OHVD las mujeres no gestantes y las gestantes sanas, se observó que la media de los niveles séricos de 25OHVD, fue más baja en el primer trimestre de la mujer gestante sana al ser comparada con la mujer no gestante tanto con la fase folicular (26.54 ng/mL ( $\pm$  5.27) Vs 31.9 ng/mL ( $\pm$ 6.03);  $p < 0.001$ ) como con la fase lútea (26.54 ng/mL ( $\pm$  5.27) Vs 34.9 ( $\pm$ 8.63) ;  $p < 0.001$ ) (Tabla 4, Figura 5).

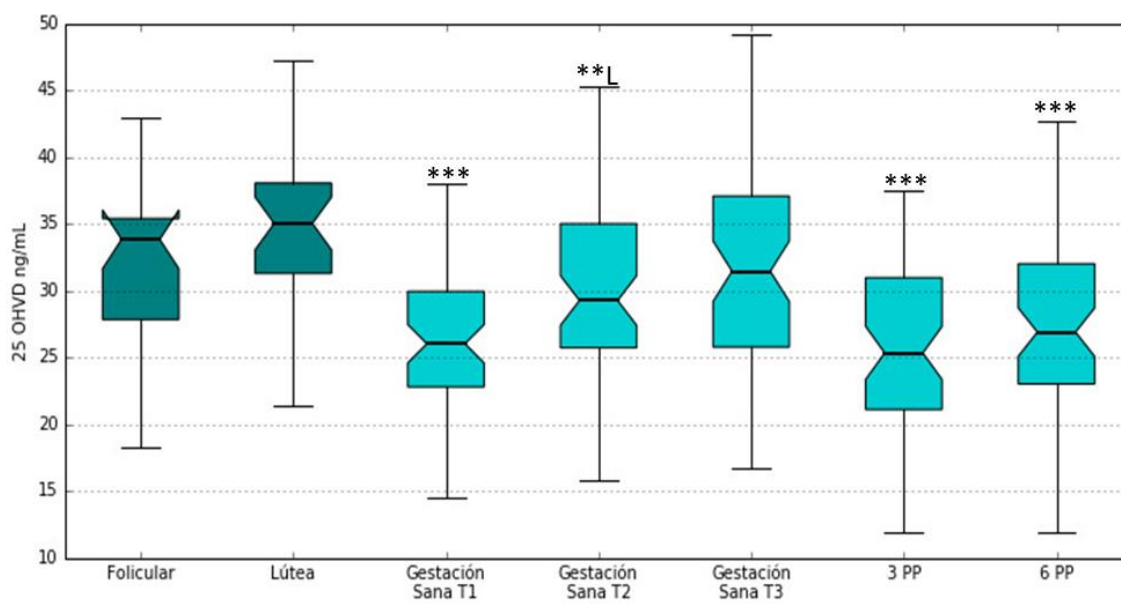
En relación al postparto, los niveles séricos de 25OHVD son más bajos para las mujeres 3 meses posparto cuando se compara con las mujeres no gestantes fase folicular (25.7ng/mL ( $\pm$  6.65) Vs 31.9ng/mL( $\pm$ 6.03);  $p < 0.001$ ) o lútea del ciclo menstrual (25.7ng/mL ( $\pm$  6.65) Vs 34.9ng/mL( $\pm$ 8.63);  $p < 0.001$ ), igual ocurre para el posparto a los 6 meses cuando se compara con mujeres no gestante en fase folicular (27.2ng/mL ( $\pm$  6.78) Vs 31.9ng/mL( $\pm$ 6.03);  $p < 0.001$ ) o lútea del ciclo (27.2ng/mL ( $\pm$  6.78) Vs 34.9ng/mL ( $\pm$ 8.63);  $p < 0.001$ ) (Tabla 4, Figura 5).

**Tabla 4. Comparación niveles séricos de 25OHVD durante ambas fases del ciclo menstrual y la gestación sana.**

25OHVD ng/mL en ciclo menstrual	25 OHVD ng/mL en Periodos embarazo sano (n=61)				
	T1: 26.5 ± 5.27	T2: 30.1 ± 8.07	T3: 31.9 ± 8.59	3 PP: 25.7 ± 6.65	6 PP: 27.2 ± 6.78
<b>Folicular</b> 31.9 ± 6.03	p<0.001	p= 0.12	p=0.7889	p <0.001	p<0.001
<b>Lútea</b> 34.9 ± 8.63	p<0.001	p <0.01	p=0.12	p <0.001	p<0.001

T: trimestre PP: postparto. Las variables no normales son enunciadas como mediana (RIC). Las variables con distribución normal son enunciadas como medias ± DE. \* p-valor < 0.05, \*\* p-valor < 0.01, \*\*\*p-valor < 0.001.

**Figura 5. Comparación niveles séricos de 25OHVD durante ambas fases del ciclo menstrual y la gestación sana.**



T: trimestre. 3 PP: Postparto 3 meses, 6 PP: Postparto 6 meses. L: los niveles fueron estadísticamente sólo para la fase lútea. Resto de los valores fueron significativos para la comparación con ambas fases del ciclo menstrual. \* p-valor < 0.05, \*\* p-valor < 0.01, \*\*\*p-valor < 0.001

### 4.3 Resultados Mujeres gestantes con desenlace de preeclampsia

Se caracterizaron 20 mujeres durante los 3 trimestres del embarazo que desarrollaron preeclampsia sin signos de severidad. La mediana de la edad de estas pacientes fue de 19.5 años (18-26.25). Se observaron diferencias significativas en la presión arterial sistólica, en el IMC y en los niveles de leptina comparado con las gestantes sanas. (Tabla 5).

**Tabla 5. Características clínicas de las gestantes que desarrollaron preeclampsia**

Característica	Preeclámpsia (n = 20)	Valor de p. comparación con gestantes sanas
Edad (años)	19.5 (18-26.25)	0.1341162
Edad gestacional (semanas) mediana (IQR)		
Primer trimestre	12.3 (11.2-13.4)	0.9693
Segundo trimestre	24.3 (24.08-24.5)	0.4340
Tercer trimestre	34.9 (34.2-35.52)	0.3951
IMC media $\pm$ DE		
Primer trimestre	23.9 $\pm$ 2.82	<0.001
Segundo trimestre	26.4 $\pm$ 2.82	<0.001
Tercer trimestre	29.4 $\pm$ 2.73	<0.001
PAS (mmHg) media $\pm$ DE		
Primer trimestre	104 $\pm$ 7.57	<0.001
Segundo trimestre	104.2 $\pm$ 8.63	<0.001
Tercer trimestre	108.5 $\pm$ 12.1	<0.001
PAD (mmHg) mediana (RIC)		
Primer trimestre	68 (60-70)	<0.05
Segundo trimestre	63 (60-70)	<0.01
Tercer trimestre	60 (60-70)	0.4045
Leptina (pg/mL) mediana (RIC)		
Primer trimestre	32609 (28906-37983)	<0.0001
Segundo trimestre	61070 (50964-77700)	<0.0001
Tercer trimestre	87873 (24271-184528)	<0.0001

IMC: índice de Masa Corporal, PAS: Presión Arterial Sistólica, PAD: Presión Arterial Diastólica. Las variables no normales son enunciadas como mediana (RIC). Las variables con distribución normal son enunciadas como medias  $\pm$  DE. \* p-valor < 0.05, \*\* p-valor < 0.01, \*\*\*p-valor < 0.001.

Los niveles séricos de 25OHVD en la gestación complicada por preeclampsia se comportaron así: la media durante el primer trimestre fue de 28.3 ng/mL ( $\pm 8.1$ ), durante el segundo trimestre fue de 29.6 ng/mL ( $\pm 6.41$ ) y durante el tercer trimestre fue de 29.3 ng/mL ( $\pm 7.5$ ). (Tabla 6).

Los niveles séricos de 25OHVD permanecen sin variaciones cuando se compara del primer al segundo trimestre (28.3 ng/mL ( $\pm 8.1$ ) Vs 29.6 ng/mL ( $\pm 6.41$ )  $p=0.4727$ ), al igual que no se presentaron cambios significativos cuando se comparan los niveles de 25OHVD del segundo al tercer trimestre (29.6 ng/mL ( $\pm 6.41$ ) Vs 29.3 ng/mL ( $\pm 7.5$ )  $p=1$ ), incluso los valores permanecen iguales cuando se compara del primero al tercer trimestre de la gestación complicada por preeclampsia (28.3 ng /mL ( $\pm 8.1$ ) Vs 29.3 ng /mL ( $\pm 7.5$ )  $p=0.7089$ ) (Tabla 6).

**Tabla 6. Niveles de 25OHVD durante el embarazo complicado por preeclampsia**

Variable	Preeclampsia n= 20			*F	P valor Análisis post hoc		
	T 1	T 2	T3		T1 vsT2	T2 vsT3	T1 vsT3
25OHVD ng/mL	28.3 ( $\pm 8.1$ )	29.6 ( $\pm 6.41$ )	29.3 ( $\pm 7.5$ )	1	0.4727	1	0.7089

T: trimestre P: postparto, \*F: Friedman's test. Las variables no normales son enunciadas como mediana (RIC). Las variables con distribución normal son enunciadas como medias  $\pm$  DE. \*  $p$ -valor < 0.05, \*\*  $p$ -valor < 0.01, \*\*\* $p$ -valor < 0.001.

#### **4.4 Comparación entre el embarazo sano y el embarazo complicado por preeclampsia**

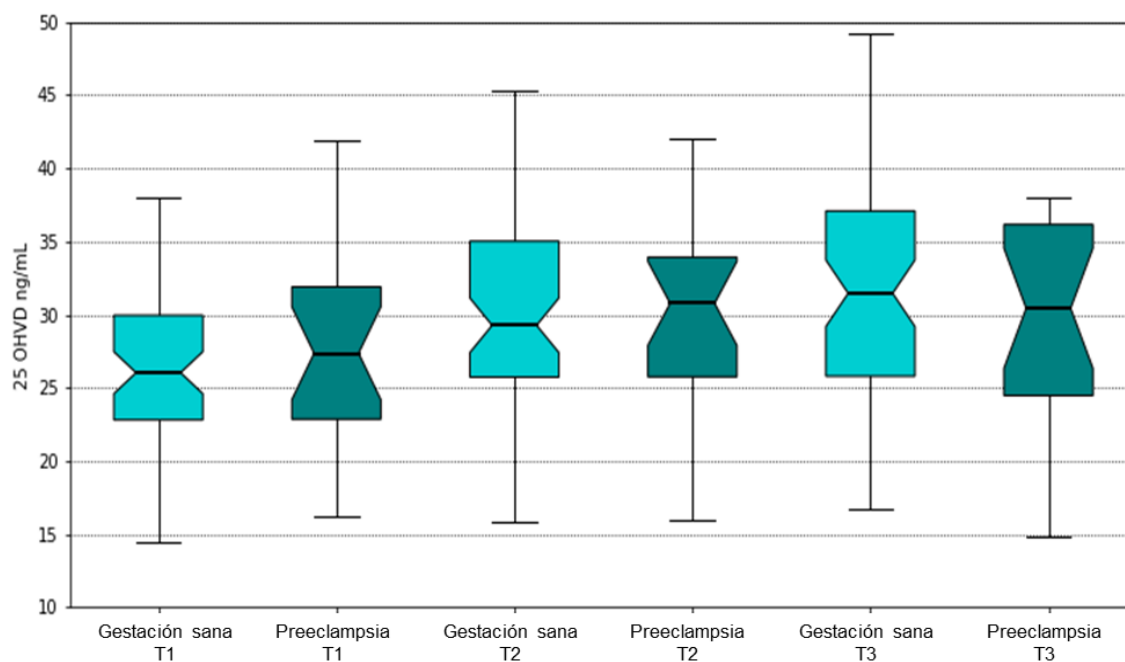
Los niveles séricos de 25OHVD durante el primer trimestre tanto del embarazo sano como del complicado por preeclampsia fueron similares (26.6 ng/mL ( $\pm 5.27$ ) Vs 28.3 ng/mL ( $\pm 8.1$ );  $p= 0.561$ ), al igual que, fueron similares para el segundo trimestre de ambos grupos (29.6 ng/mL ( $\pm 6.41$ ) Vs 30.1 ( $\pm 8.07$ );  $p= 0.952$ ) y para el tercer trimestre (31.91 ng/mL ( $\pm 8.59$ ) Vs 29.3 ng/mL ( $\pm 7.5$ );  $p= 0.358$ ) (Tabla 7, Figura 6)

**Tabla 7. Niveles de 25OHVD durante el embarazo complicado por preeclampsia y su comparación con el embarazo sano**

Trimestre	Comparación 25OHVD ng/mL en ambos grupos de gestantes		
	Preeclampsia	Sanas	Valor P
Primer Trimestre	28.3 ( $\pm 8.1$ )	26.6 ( $\pm 5.27$ )	0.561
Segundo Trimestre	29.6 ( $\pm 6.41$ )	30.1 ( $\pm 8.07$ )	0.952
Tercer Trimestre	29.3 ( $\pm 7.5$ )	31.9 ( $\pm 8.59$ )	0.358

Las variables no normales son enunciadas como mediana (RIC). Las variables con distribución normal son enunciadas como medias  $\pm$  DE. \* p-valor < 0.05, \*\* p-valor < 0.01, \*\*\*p-valor < 0.001.

**Figura 6. Comparación entre los niveles de 25OHVD durante el embarazo sano y el embarazo complicado por preeclampsia**



T: trimestre \* p-valor < 0.05, \*\* p-valor < 0.01, \*\*\*p-valor < 0.001.



#### 4.5 Correlaciones

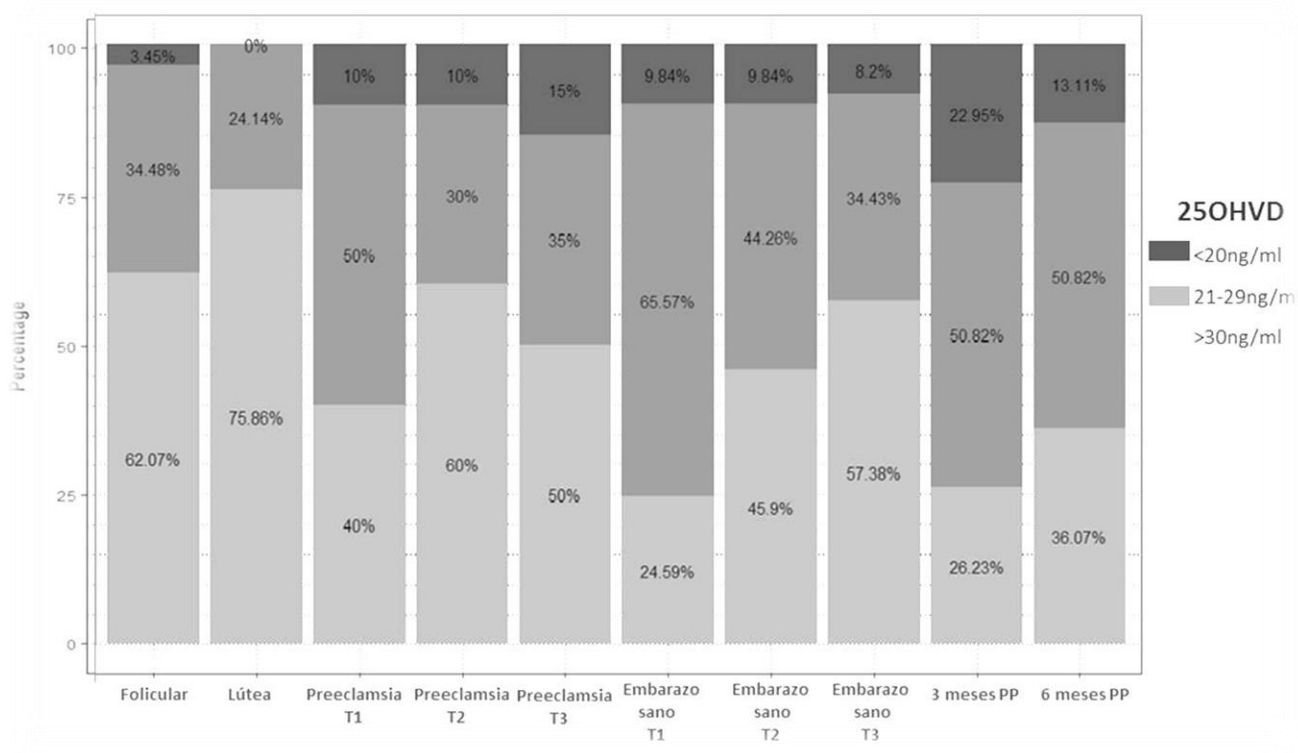
Durante el embarazo sano no se presentaron correlaciones estadísticamente significativas entre leptina y vitamina D, las correlaciones fueron: primer trimestre (r: 0.0733; P: 0.5744), segundo (r: -0.126; P: 0.3334), y tercer trimestre (r: -0.1767; P: 0.1732)

Tampoco se presentaron correlaciones estadísticamente significativas en las mujeres que desarrollaron preeclampsia entre vitamina D y leptina ni en el primero (r:-0.1014; P: 0.6707), ni segundo (r: -0.0429; P: 0.8574), ni tampoco en el tercer trimestre (r: 0.2804; P: 0.2312).

#### 4.6 Frecuencias de niveles de 25OHVD < 20ng/mL, y < 30ng/mL en la gestación sana

En el primer trimestre del embarazo sano la frecuencia de niveles de 25OHVD < 30ng/mL fue del 75.4%, y para los niveles < 20ng/mL la frecuencia fue de 9.84%. Durante el segundo trimestre del embarazo sano la frecuencia de niveles de 25OHVD < 30ng/mL fue del 54.1%, y para los niveles < 20ng/mL la frecuencia fue de 9.84%. Para el tercer trimestre, la frecuencia de niveles de 25OHVD < 30ng/mL fue del 42.63%, y para los niveles < 20ng/mL la frecuencia fue de 8.2%. A los 3 meses post parto la frecuencia de los niveles < 30ng/mL fue de 73.77% y para los niveles < 20ng/mL fue de 22.95%. Finalmente, a los 6 meses post parto los niveles < 30ng/mL fueron del 63.93% y de niveles < 20ng/mL del 13.11% (Figura 7).

**Figura 7. Porcentaje de frecuencias de niveles mayores de 30ng/mL, entre 20 y 30 ng/mL y niveles menores de 20 ng/mL**



T, trimestre. PP post parto

## 5. Discusión

En este estudio los niveles séricos de 25OHVD en mujeres no gestantes fueron más bajos en la fase folicular que en la lútea del ciclo menstrual. Además, los niveles séricos de 25OHVD en el primer trimestre del embarazo sano fueron más bajos cuando se compararon con la mujer no gestante, con el segundo y el tercer trimestre del embarazo sano.

Por su parte, los niveles séricos de 25OHVD no cambiaron de manera significativa a lo largo de la gestación complicada por preeclampsia, y no se presentaron diferencias estadísticamente significativas con las gestantes sanas.

Estudios previos, han señalado que no hay variación significativa de vitamina D entre ambas fases del ciclo menstrual (41,42). Sin embargo, en dichos estudios el tamaño de muestra fue pequeño (41,42). Por el contrario, otros estudios han descrito que si hay variación en hormonas calciotropas, en especial en  $1,25(\text{OH})_2\text{VD}$  durante el ciclo menstrual, pero dichos estudios también tienen limitación en el número de muestra (43–48). Recientemente, Franasiak *et al* publicaron un estudio que incluyó 33 pacientes, en este estudio se demostró que los niveles de 25OHVD total y libre no cambian a través de la fase folicular del ciclo menstrual, pero no se determinó 25OHVD en la fase lútea (49). Los autores concluyen: *“Future areas of study should more fully explore the luteal phase changes to determine if alterations in vitamin D metabolism might become apparent”* (49).

En el presente estudio se encontró diferencia entre ambas fases del ciclo menstrual. Un mecanismo fisiológico que podría explicar la diferencia encontrada de 25OHVD entre la fase folicular y la fase lútea del ciclo menstrual sería la influencia de los estrógenos sobre la 1 alfa hidroxilasa renal, que aumentaría la conversión de 25OHVD a  $1,25(\text{OH})_2\text{VD}$  por el riñón, mientras que, la progesterona no lo aumenta (48).

La progesterona por su parte ha sido asociada con inhibición de la **24 hidroxilasa** cuya función es metabolizar 25OHVD y  $1,25(\text{OH})_2\text{VD}$  a metabolitos inactivos, esta inhibición generaría un aumento de la vida media de  $1,25(\text{OH})_2\text{VD}$  que inhibiría a 1 alfa hidroxilasa renal (21). Desde este punto de vista, lo que

disminuiría los niveles circulantes de 25OHVD en la fase folicular sería el aumento de su metabolismo.

El hallazgo de valores más bajos de 25OHVD durante el primer trimestre en el embarazo sano comparado con mujeres no gestantes y con todos los trimestres del embarazo está de acuerdo con otros autores (50–53). Sin embargo, este es el primer trabajo que incluye a la mujer no gestante en ambas fases del ciclo menstrual.

Este estudio muestra que los niveles de 25OHVD caen en el primer trimestre de la gestación sana comparado con la mujer no gestante independiente de la fase del ciclo menstrual. Una razón que pudiera explicar esta disminución, es la mayor tasa de conversión de la forma 25OHVD, por la 1 alfa hidroxilasa a la forma 1,25(OH)<sub>2</sub>VD sobre todo por el riñón materno más que por la placenta (54,55). Esta mayor tasa de conversión, que es independiente de PTH, estaría dada por inducción hormonal de la 1 alfa hidroxilasa mediada por los estrógenos, la prolactina y el IGF-1(56–59).

Los niveles séricos de 25OHVD desde este punto de vista, no incrementarían a través de embarazo como se ha propuesto (50,51) sino que, los niveles de 25OHVD tendrían a recuperarse a través del embarazo.

El presente estudio muestra que en la fase lútea, cuando la progesterona está elevada, los niveles de 25OHVD también lo están. Podría plantearse que el incremento significativo a través del embarazo estaría relacionado con el aumento progresivo de progesterona durante el segundo y el tercer trimestre.

La progesterona, como se señaló, tiene un papel inhibitorio sobre la 24 hidroxilasa y podría mantener los niveles circulantes de 25OHVD y de 1,25(OH)<sub>2</sub>VD por más tiempo y este último a su vez, puede favorecer la inhibición de la 1 alfa hidroxilasa, Lo que disminuiría teóricamente la conversión del sustrato 25OHVD a 1,25(OH)<sub>2</sub>VD (21). Sin embargo, se requieren estudios adicionales para corroborar la hipótesis.

Con respecto a la preeclampsia, los niveles séricos de 25OHVD no variaron a través del embarazo y no difirieron de las gestantes sanas. Otros autores han reportado niveles más bajos de 25OHVD en mujeres con preeclampsia (34,60).

Incluso, Weis SQ *et al.* describen que las pacientes con niveles bajos de 25OHVD durante el segundo trimestre del embarazo presentan un OR de 3.2 para desarrollar preeclampsia (61).

Al igual que, *Zhao et al*, en una gran muestra de gestantes, encuentran que los niveles bajos de 25OHVD en segundo trimestre del embarazo tienen un OR de 3.16 para desarrollar preeclampsia (62).

Nuestros hallazgos diferentes a otros autores, podrían deberse a que las pacientes que se incluyeron en nuestro estudio eran solo aquellas con preeclampsia no severa y el número de la muestra pequeño puede interferir con los resultados.

En este estudio la frecuencia en el primer trimestre del embarazo de niveles de 25OHVD menores a 30ng/mL, punto de corte de insuficiencia para *Endocrine society*, fue del 75.41%. La frecuencia de niveles menores de 20ng/mL, que es el punto de corte para niveles inadecuados de la IOM, fue del 9.84%.

Estos datos son similares a los reportados en Brasil por *Figueiredo et al*. Cuya prevalencia de niveles menores de 30ng/mL fue del 70.4% y de niveles por debajo de 20ng/mL del 16.1% (63). Estos datos contrastan con otros países como Turquía que presenta prevalencia de niveles de 25OHVD por debajo de 20ng/mL de hasta el 90% (3,4). En nuestro estudio además se encontró que en los 3 meses postparto hay mayor frecuencia de niveles por debajo de 20ng/mL.

Las limitaciones de este estudio incluyen un tamaño de muestra pequeño, falta de datos sobre la exposición solar individual, además de datos sobre el consumo de alimentos y suplementos.

En el presente estudio no se midieron otros factores calciotropos, sin embargo la PTH, calcio y fósforo no se correlacionan de igual forma que en la población no gestante, dado que el embarazo interfiere de forma independiente con el comportamiento normal del eje PTH-fósforo-calcio (25).

Otra limitación de este estudio es la técnica de laboratorio que no fue espectrometría de tándem en masas (que es el Gold estándar para la medición de 25OHVD), pero esta técnica no está de rutina disponible en Colombia.

Estas limitaciones deben tenerse en cuenta antes de que los resultados del estudio se transfieran a mujeres que viven en condiciones diferentes y en otras latitudes.

## 6. Conclusiones y recomendaciones

El hallazgo de la variación de los niveles séricos de 25OHVD durante el ciclo menstrual es un hallazgo significativo en este estudio. Sin embargo debe ser corroborado con la medición de 25OHVD libre y total en ambas fases del ciclo menstrual y con una muestra mayor de pacientes no gestantes sanas eumenorreicas caracterizadas hormonalmente con estradiol y progesterona a través del ciclo.

Las gestantes Colombianas son un grupo poblacional con mayor riesgo de presentar niveles bajos de vitamina D cuando se compara con mujeres no gestantes en edad fértil independiente de la fase del ciclo menstrual.

El periodo de tres meses postparto es donde se presenta la mayor frecuencia de niveles por debajo de 20ng/mL.

Se recomienda el diseño de un estudio que incluya un numero de muestra mayor y con mayor representatividad de la población colombiana para establecer la prevalencia real del déficit de vitamina D en Colombia, al igual que estudios que valoren el impacto en desenlaces materno perinatales.

En este estudio, las pacientes con preeclampsia no severa, no presentaron variación de los niveles de 25OHVD durante todo el embarazo, y no hubo diferencias significativas con respecto al embarazo sano.

No se presentó correlación entre leptina y vitamina D

## 7. Bibliografía

1. JoAnn E. Manson, Patsy M. Brannon, Clifford J. Rosen CLT. Vitamin D Deficiency — Is There Really a Pandemic ? N Engl J Med. 2016;375(19):1817–20.
2. Hollis BW, Wagner CL. Molecular and Cellular Endocrinology Vitamin D supplementation during pregnancy: Improvements in birth outcomes and complications through direct genomic alteration . Mol Cell Endocrinol; 2017;453:113–30.
3. De-Regil LM, Palacios C, Lombardo LK, Pena-Rosas JP. Vitamin D supplementation for women during pregnancy. Cochrane database Syst Rev. 2016 Jan;1:CD008873.
4. Looker AC, Johnson CL, Lacher DA, Pfeiffer CM, Ph D, Schleicher RL, et al. Vitamin D Status : United States , 2001 – 2006 . NCHS Data Brief. 2011. p. 1–8. Disponible en línea (consultado 11 de diciembre 2017): <https://www.cdc.gov/nchs/data/databriefs/db59.pdf>
5. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari H a, Gordon CM, Hanley D a, Heaney RP, et al. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. J Clin Endocrinol Metab. 2011 Jul;96(7):1911–30.
6. OMS. Guideline: Vitamin D supplementation in pregnant women. 2012; Disponible en línea (consultado 11 de diciembre 2017): [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85313/1/9789241504935\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85313/1/9789241504935_eng.pdf)
7. Vásquez-awad D, Cano-gutiérrez CA, Gómez-ortiz A, González MÁ, Guzmán-R, Vásquez-awad D, et al. Guías y consensos Vitamina D . Consenso colombiano de expertos. Revista Medicina. 2017. p. 140–57. Disponible en línea (consultado 11 de diciembre 2017): <http://revistamedicina.net/ojsanm/index.php/Medicina/article/viewFile/117-6/1468>
8. Builes C. Comportamiento de los niveles de 25 hidrox-vitamina D, calcio y paratohormona en una población de 20 a 60 años en Medellín-Colombia. Rev Colomb Endocrinología Diabetes y Metab. 2017;4(3):14–9.
9. Molina JF, Molina J, Escobar JA, Betancur JF, Giraldo A. Niveles de 25 hidroxivitamina D y su correlación clínica con diferentes variables metabólicas y cardiovasculares en una población de mujeres posmenopáusicas. Acta Med Colomb.;36(1):18–23.
10. Gonzalez D, Zuñiga C, Kattah W. Insuficiencia de vitamina D en pacientes

adultos con baja masa ósea y osteoporosis en la Fundación Santa Fe de Bogotá 2008-2009. *Rev Colomb Reum.* 2010;17(4):212–8.

11. Rosero-Olarte FO, Rueda-Rojas VP O-DJ. Masa ósea reducida e hipovitaminosis D en mujeres posmenopáusicas: estudio exploratorio en Villavicencio, Colombia. 2012-2013. *Arch Med.* 2015;15(1):46–56.

12. Hormanza MP, Cuesta D, Martinez LM, Massaro MM, Campo MN, Velez M, et al. Niveles séricos de 25 Hidroxivitamina D en mujeres no menopáusicas, menopáusicas y posmenopáusicas. *Rev Colomb Obs Ginecol .* 2011;62(3):231–6.

13. Gilbert-diamond D, Baylin A, Mora-plazas M, Marin C, Arsenault JE, Hughes MD, et al. Vitamin D deficiency and anthropometric indicators of adiposity in school-age children : a prospective study 1 – 3. *Am J Clin Nutr.* 2010;92:1446–51.

14. Agudelo Y, Cortés J, Linares AF, Mancera C, Perea-Ariza SA, Ramírez KY, et al. El papel de la vitamina D en la gestación y la preeclampsia: de la biología molecular a la clínica. *Rev Colomb Endocrinol Diabetes y Metab.* 2016;3(2):22–35.

15. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007;357:266–81.

16. Zuluaga-Espinoza N a, Alfaro-Velásquez JM, Blthazar-González V, Jiménez-Blanco KE, Campuzano-Maya G. Vitamina D: nuevos paradigmas. *Med Lab.* 2011;17:211–46.

17. Joergensen JS, Lamont RF, Torloni MR. Vitamin D and gestational diabetes: an update. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2014;17(4):360–7.

18. Berridge MJ. Vitamin D cell signalling in health and disease. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015;460(1):53–71.

19. Christakos S, Ajibade D V, Dhawan P, Fechner AJ, Mady LJ. Vitamin D: Metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010 Jun;39(2):243–53.

20. Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol.* 2014;21(3):319–29.

21. Rodriguez GC, Turbov J, Rosales R, Yoo J, Hunn J, Zappia KJ, et al. Gynecologic Oncology Progestins inhibit calcitriol-induced CYP24A1 and synergistically inhibit ovarian cancer cell viability: An opportunity for chemoprevention. *Gynecol Oncol.* 2016;143(1):159–67.

22. Ryan JW, Anderson PH, Morris HA. Pleiotropic Activities of Vitamin D Receptors - Adequate Activation for Multiple Health Outcomes. *Clin Biochem Rev.*



2015;36(2):53–61.

23. Barrett H, McElduff A. Vitamin D and pregnancy: An old problem revisited. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2010;24(4):527–39.

24. Shin JS, Choi MY, Longtine MS, Nelson DM. Vitamin D effects on pregnancy and the placenta. *Placenta.* 2010;31(12):1027–34.

25. Kovacs. Calcium Metabolism during Pregnancy and Lactation. 2015. Disponible en línea (consultado 11 de diciembre 2017): [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279173/#\\_NBK279173\\_pubdet\\_](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279173/#_NBK279173_pubdet_)

26. Black LJ, Anderson D, Clarke MW, Ponsonby A-L, Lucas RM. Analytical Bias in the Measurement of Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations Impairs Assessment of Vitamin D Status in Clinical and Research Settings. *PLoS One.* 2015;10(8):e0135478.

27. IOM. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. *Pediatrics.* 2012;130(5):e1424–e1424.

28. Bodnar LM, Simhan HN, Powers RW, Frank MP, Cooperstein E, Roberts JM. High prevalence of vitamin D insufficiency in black and white pregnant women residing in the northern United States and their neonates. *J Nutr.* 2007 Feb;137(2):447–52.

29. O’Riordan MN, Kiely M, Higgins JR, Cashman KD. Prevalence of suboptimal vitamin D status during pregnancy. *Ir Med J.* 2008;101(8):240,242–3.

30. Sachan A, Gupta R, Das V, Agarwal A, Awasthi PK, Bhatia V. High prevalence of vitamin D deficiency among pregnant women and their newborns in northern India. *Am J Clin Nutr.* 2005;81(5):1060–4.

31. Barrera D, Díaz L, Noyola-Martínez N, Halhali A. Vitamin D and Inflammatory Cytokines in Healthy and Preeclamptic Pregnancies. *Nutrients.* 2015;7(8):6465–90.

32. Ueki N, Takeda S, Koya D, Kanasaki K. The Relevance of the Renin-Angiotensin System in the Development of Drugs to Combat Preeclampsia. *Int J Endocrinol.* Hindawi Publishing Corporation; 2015;2015:1–12.

33. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists’ Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2013;122(5):1122–31.

34. Hyppönen E, Cavadino A, Williams D, Fraser A, Vereczkey A, Fraser WD, et

al. Vitamin D and pre-eclampsia: original data, systematic review and meta-analysis. *Ann Nutr Metab.* 2013;63(4):331–40.

35. Colonese F, Laganà AS, Colonese E, Sofo V, Salmeri FM, Granese R, et al. The Pleiotropic Effects of Vitamin D in Gynaecological and Obstetric Diseases: An Overview on a Hot Topic. *Biomed Res Int.* 2015;2015:1–11.

36. Hofmeyr GJ, Lawrie TA, Atallah AN, Duley L, Torloni MR. Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 Jun 24;(6):CD001059.

37. Chicaíza-becerra LA, García-molina M, Oviedo-ariza SP, Urrego-novoa JR, Rincón-rodríguez CJ, Rubio-romero JA. Costo efectividad del suplemento de calcio para reducir la mortalidad materna asociada a preeclampsia en Colombia. *Rev. Salud pública.* 2016;18(2):300–10.

38. Poveda NE, Garces MF, Ruiz-Linares CE, Varon D, Valderrama S, Sanchez E, et al. Serum Adipsin Levels throughout Normal Pregnancy and Preeclampsia. *Sci Rep.* 2016 Feb;6:20073.

39. Hajimohammadi M, Shab-Bidar S, Neyestani TR. Vitamin D and serum leptin: a systematic review and meta-analysis of observational studies and randomized controlled trials. *Eur J Clin Nutr.* 2017;71(10):1144-1153

40. Zabul P, Wozniak M, Slominski AT, Preis K, Gorska M. A Proposed Molecular Mechanism of High-Dose Vitamin D3 Supplementation in Prevention and Treatment of Preeclampsia. *Int J Mol Sci.* 2015; 16(6):13043-64.

41. Muse KN, Manolagas SC, Deftos LJ, Alexander N, Yen SS. Calcium-regulating hormones across the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986 Jun;62(6):1313–6.

42. Nielsen HK, Brixen K, Bouillon R, Mosekilde L. Changes in biochemical markers of osteoblastic activity during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;70(5):1431–7.

43. Baran DT, Whyte MP, Haussler MR, Deftos LJ, Slatopolsky E, Avioli L V. Effect of the menstrual cycle on calcium-regulating hormones in the normal young woman. *J Clin Endocrinol Metab.* 1980;50(2):377–9.

44. Buchanan JR, Santen R, Cauffman S, Cavaliere A, Greer RB, Demers LM. The effect of endogenous estrogen fluctuation on metabolism of 25-hydroxyvitamin D. *Calcif Tissue Int.* 1986;39(3):139–44.

- 
45. Gray TK, McAdoo T, Hatley L, Lester GE, Thierry M. Fluctuation of serum concentration of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> during the menstrual cycle. *Am J Obstet Gynecol.* 1982;144(8):880–4.
  46. Thys-Jacobs S, Alvir MJ. Calcium-regulating hormones across the menstrual cycle: evidence of a secondary hyperparathyroidism in women with PMS. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(7):2227–32.
  47. Tjellesen L, Christiansen C, Hummer L, Larsen NE. Unchanged biochemical indices of bone turnover despite fluctuations in 1,25-dihydroxyvitamin D during the menstrual cycle. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1983;102(3):476–80.
  48. Pitkin RM, Reynolds WA, Williams GA, Hargis GK. Calcium-regulating hormones during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab.* 1978;47(3):626–32.
  49. Franasiak JM, Molinaro XWTA, Sun KGW. Free vitamin D does not vary through the follicular phase of the menstrual cycle. *Endocrine.* 2016;1–5.
  50. Lundqvist A, Sandstrom H, Stenlund H, Johansson I, Hulthdin J. Vitamin D Status during Pregnancy: A Longitudinal Study in Swedish Women from Early Pregnancy to Seven Months Postpartum. *PLoS One.* 2016;11(3):e0150385.
  51. Milman N, Hvas A-M, Bergholt T. Vitamin D status during normal pregnancy and postpartum. A longitudinal study in 141 Danish women. *J Perinat Med.* 2011;40(1):57–61.
  52. Holmes VA, Barnes MS, Alexander HD, McFaul P, Wallace JMW. Vitamin D deficiency and insufficiency in pregnant women: a longitudinal study. *Br J Nutr.* 2009 Sep;102(06):876.
  53. Zhang JY, Lucey AJ, Horgan R, Kenny LC, Kiely M. Impact of pregnancy on vitamin D status: a longitudinal study. *Br J Nutr.* 2014;112:1081–7.
  54. Tamblyn JA, Susarla R, Jenkinson C, Jeffery LE, Ohizua O, Chun RF, et al. Dysregulation of maternal and placental vitamin D metabolism in preeclampsia. *Placenta.* 2017 Feb;50:70–7.
  55. Kumar R, Cohen WR, Silva P, Epstein FH. Elevated 1,25-dihydroxyvitamin D plasma levels in normal human pregnancy and lactation. *J Clin Invest.* 1979 Feb;63(2):342–4.
  56. Boass A, Garner SC, Schultz VL, Toverud SU. Regulation of serum calcitriol by serum ionized calcium in rats during pregnancy and lactation. *J Bone Miner*

Res.1997;12(6):909–14.

57. Spanos E, Barrett D, MacIntyre I, Pike JW, Safilian EF, Haussler MR. Effect of growth hormone on vitamin D metabolism. *Nature*. 1978;273(5659):246–7.

58. Spanos E, Colston KW, Evans IM, Galante LS, Macauley SJ, Macintyre I. Effect of prolactin on vitamin D metabolism. *Mol Cell Endocrinol*. 1976;5(3-4):163–7.

59. Garabedian M, Holick MF, Deluca HF, Boyle IT. Control of 25-hydroxycholecalciferol metabolism by parathyroid glands. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1972;69(7):1673–6.

60. Baca KM, Simhan HN, Platt RW, Bodnar LM. Low maternal 25-hydroxyvitamin D concentration increases the risk of severe and mild preeclampsia. *Ann Epidemiol*. 2016;26(12):853–7.e1.

61. Wei SQ, Audibert F, Hidirolou N, Sarafin K, Julien P, Wu Y, et al. Longitudinal vitamin D status in pregnancy and the risk of pre-eclampsia. *BJOG*. 2012;119(7):832–9.

62. Zhao X, Fang R, Yu R, Chen D, Zhao J, Xiao J. Maternal Vitamin D Status in the Late Second Trimester and the Risk of Severe Preeclampsia in Southeastern China. *Nutrients*. 2017;9(2).

63. Figueiredo ACC, Cocate PG, Adegboye ARA, Franco-Sena AB, Farias DR, de Castro MBT, et al. Changes in plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D during pregnancy: a Brazilian cohort. *Eur J Nutr*. 2017. doi: 10.1007/s00394-017-1389-z.